Aus der Chirurgischen Abteilung
des Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhauses Berlin
Chefarzt: Professor Dr.med. Wilhelm H e i m

Bestimmung der Überlebensfähigkeit von transfundierten Erythrozyten mit der ^{51}Chrom - Markierungsmethode bei Verwendung unterschiedlicher Stabilisatoren

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Siegfried Mehlhorn
Berlin

1965

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546516_0066

Aus der Chirurgischen Abteilung
des Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhauses Berlin
Chefarzt: Professor Dr.med. Wilhelm H e i m

Bestimmung der Überlebensfähigkeit von transfundierten Erythrozyten mit der ^{51}Chrom - Markierungsmethode bei Verwendung unterschiedlicher Stabilisatoren

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Siegfried Mehlhorn
Berlin

Dekan: Professor Dr.med. Adalbert L o e s c h k e

Referent: Professor Dr.med. Wilhelm H e i m

Korreferent: Professor Dr.med. Heinz O e s e r

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 24.Juni 1965

Mit der Erforschung der serologischen Eigenschaften des menschlichen Blutes, angefangen bei der Entdeckung der Blutgruppen durch Landsteiner (1900) über die Ermittlung des Rh-Faktors durch Wiener und Landsteiner (1940) bis zu den heute nach Pettenkofer (40) als wichtig angesehenen 10 Blutgruppensystemen, ist die Bedeutung der Bluttransfusion stetig gewachsen, so daß die Blutkonserve heute zum festen Bestandteil ärztlichen Handelns gehört.

Heim (23) gibt folgende Indikationen für eine Bluttransfusion an :

I. Absolute Indikationen

1. Akuter großer Blutverlust (Unfallchirurgie)
2. Wiederholte Blutverluste (Geschwürsblutung)
3. Großer Blutverlust während einer Operation
4. Austauschtransfusion (Erythroblastose)
5. Extrakorporaler Kreislauf
6. Künstliche Dialyse
7. Hochgradige Anaemie
8. Haemophilie
9. Strahlen- und tumorbedingte Anaemie

II. Relative Indikationen

1. Operationsvorbereitung bei sekundärer Anaemie
2. Bekämpfung des Operationsschocks
3. Anaemie mäßigen Grades infolge entzündlicher Prozesse
4. Ausgleich eines Eiweißdefizites
5. Intoxikation (besonders bei Kleinkindern)
6. Blutstillung
7. Blutkrankheiten

Diese unter strenger und kritischer Betrachtung aufgestellten Grenzen der Indikationsbreite von Blutübertragungen zeigen die großen Verwendungsmöglichkeiten, sollen jedoch auch unnötige Konservenanforderungen vermeiden helfen.

Da Heim (24) schätzt, daß 9/10 aller Bluttransfusionen mittels Blutkonserve vorgenommen werden, ist damit die Konservierung in den Mittelpunkt der Transfusion getreten. Auch wird angenommen, daß kein großer therapeutischer Unterschied zwischen Frischblut und Konservenblut festzustellen ist (5).

Weil es nun sehr schwer ist, den noch immer steigenden Bedarf an Blutkonserven durch Vergrößerung des Spenderkreises zu befriedigen, erhebt sich die Frage nach der Möglichkeit, Blut länger zu lagern als bisher, um es nicht durch Alterung nach drei bis vier Wochen Lagerungszeit zu

verlieren. Denn im allgemeinen nimmt man an, daß es nicht indiziert ist, eine Konserve, in welcher die größte Zahl der Erythrozyten nicht mehr lebensfähig ist, zu transfundieren. Obwohl nach Hasse (22) bei gleichem therapeutischen Wert, gemessen am subjektiven Allgemeinbefinden, alte Konserven keine prozentual höher liegenden Transfusionsreaktionen hervorrufen als jüngere.

Eine noch bessere Ausnutzung der Konserven würde es ermöglichen, mit weniger Blutspenden auszukommen, um die gleichen Anforderungen zu erfüllen.

Längere bzw. unbegrenzte Lagerung von Blut würde die Abhängigkeit von der jahreszeitlichen Blutspendebereitschaft, die infolge von Urlaubswellen und Epidemien auftritt, vermindern.

Schließlich würde es erlaubt sein, die bisherige Organisation der Blutbanken weitgehend zu dezentralisieren. Somit stände dann an jedem Ort jede notwendige Konserve wie ein Medikament zur Verfügung.

Als letzte denkbare Möglichkeit könnte jedem Patienten das einmal von ihm gespendete Blut für ihn reserviert werden, falls eine Transfusion erforderlich werden sollte. Dabei würden Unverträglichkeitserscheinungen entfallen.

Die Frage nach einer optimalen Lagerung von Blut mit möglichst geringer Schädigung ist so alt wie das Problem der Konservierung selbst.

Wie kann nun Blut gelagert werden ? Es gibt folgende Prinzipien :

1. Ultraschnelle Unterkühlung unter 0° C mit Zusatz von Glyzerin,
2. Lagerung bei 4°C in einer Pufferlösung mit Zugabe von
   a) Antikoagulantien
   b) Nährlösung
   c) Substanzen, die den Erythrozytenstoffwechsel aufrechterhalten (außer b)
   d) Substanzen, die physikalisch - chemische Veränderungen der Erythrozytenmembran bewirken.

Von einer brauchbaren Lösung verlangt man heute die Erfüllung folgender Forderungen :

1. Sie muß möglichst für längere Zeit haltbar sein.

2. Ihre Molekular- und Ionenzusammensetzung sowie Konzentration muß so gewählt werden, daß weder Blutkörperchen noch die Organe des Empfängers in ihrer normalen Funktion gestört werden.
3. Es dürfen durch die Lösung keine Schädigungen im Konservenblut auftreten.
4. Das Antikoagulans darf das Blut nicht äußerlich in der Farbe beeinträchtigen, damit die Betrachtung der Konserve jederzeit den Zustand des Blutes erkennen läßt.

Weiterhin ist man der Ansicht, daß die Lösungsmenge der Stabilisatoren nicht zu groß sein darf, damit nicht infolge der großen Lösungsmenge statt des wirklichen Blutes eine gerinnungshemmende Lösung mit Blutbeimischung übertragen wird.

Der heute verwendete ACD (Natrium-Zitrat-Dextrose)-Stabilisator erfüllt diese Bedingungen weitgehend. Es ist deshalb sinnvoll, ihn als Ausgangspunkt für Versuche zur Weiterentwicklung zu wählen.

In der ACD-Lösung gelagert haben die Erythrozyten eine Überlebensfähigkeit nach drei Wochen Aufbewahrungszeit von 70 %, nach vier Wochen von 50 % (s.Abb.1; S.18). In dieser Lösung ist der pH-Wert 5,0 (s.Tabelle III; S.20).

Unter Überlebensfähigkeit versteht man die Anzahl an roten Blutkörperchen in %, die einen Tag nach der Transfusion noch im Empfänger lebensfähig vorhanden ist.

Um den Stabilisator nun mit Erfolg verbessern zu können, ist es notwendig, den Stoffwechsel und die physikalisch-chemischen Grenzmembraneigenschaften der Erythrozyten zu betrachten :

Die größte Energiemenge wird durch den Abbau der Glukose bis zur Milchsäure auf dem Weg der Glykolyse gewonnen. Hierbei fallen verwertbare energiereiche Verbindungen in Form von Adenosintriphosphat (ATP) an.

Ein kleiner Teil der Energie entsteht durch oxydative Decarboxylierung der Glukose. Dieser Weg, im allgemeinen als Glukose-Phosphat-Shunt oder Horecker-Zyklus bezeichnet, liefert als energiereiche Verbindung hydriertes Triphosphopyridinnucleotid (TPN ; jetzt: NADP = Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat), ein Wasserstoff über-

tragendes Coferment. Außerdem entstehen Intermediärprodukte, die in die Glykolyse eingehen.

Die Energie wird für die Strukturerhaltung des Erythrozyten und zur Aufrechterhaltung der intrazellulären Kaliumkonzentration benötigt.

Es ist versucht worden, dem Erythrozyten energiereiche Verbindungen, die von den ihm zur Verfügung steherden Fermenten in ATP umgewandelt werden können, zuzuführen. Für ATP selbst ist die Erythrozytenmembran nicht durchgängig.

Hier mögen nur Adenosin (15,16,37,39,42) und Inosin (13,27,37,43) genannt sein. Jedoch zeigten sich bei Gabe höherer Dosen beim Menschen toxische Nebenwirkungen. Es war deshalb nicht empfehlenswert, diese Substanzen routinemäßig zu verwenden.

Bisher wurde davon ausgegangen, daß die ATP-Produktion versiegt und daher Vorstufen des Stoffwechsels dem Blut zugesetzt werden müßten. Weshalb aber verringert sich die ATP-Bildung ? Darüber sind sehr viele theoretische Untersuchungen und Versuche in vitro vorgenommen worden :

1.) Man hat Fermentaktivitäten und Zwischenstufen der Glykolyse während der Lagerungszeit des Blutes bestimmt und festgestellt, daß die Phosphoglycerinaldehyddehydrogenase (PGADH) und die Glucose-6-phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) im Vergleich zu anderen Fermenten stärker in ihrer Aktivität abnehmen (32). Daraus folgerte man, daß diese Inaktivierung maßgeblich für die Alterung der roten Blutkörperchen verantwortlich ist (32). Diese Annahme wird jedoch inzwischen von Blum (4) und anderen Autoren (12) bestritten. Beide Fermente sind durch die für ihre Funktion notwendigen Sulfhydril (SH)-Gruppen gegenüber äußeren Einflüssen sehr empfindlich. Ausgehend von den Berichten von Löhr und Waller (32) erscheint es nützlich, durch Cystein, das eine SH-Gruppen schützende Wirkung besitzt, die Fermente zu stabilisieren.

Obwohl Cystein das Auftreten der Hämolyse verzögern soll (44), ist eine gleich große Überlebensrate nach längerer Lagerungszeit nicht unbedingt zu erwarten. Luczak (33) berichtet, daß er eine verlängerte Überlebenszeit der Erythrozyten feststellen konnte, wenn er sie in ACD und

Vitamin E lagerte; aber hier sei auch darauf verwiesen, daß Weinstein (47) eine Verlangsamung der Resistenzabnahme nach Lagerung von Erythrozyten in α-Tocopheryldinatriumphosphat zwar beobachtet hat, daß diese aber nicht parallel mit einer Verbesserung der Überlebenszeit ging. Ebenso sind Zusätze von Rutin zu beurteilen, die nach Anders (2) eine Resistenzerhöhung gegenüber Hämolyseeinflüssen herbeiführen. Es steht lediglich sicher fest, daß Rutin die Widerstandsfähigkeit der Erythrozytenmembran erhöht.

2.) Man hat ferner beobachtet, daß sich im gelagerten Blut Dihydroxyacetonphosphat (DAP) und Fructosediphosphat (FDP) ansammeln, Zwischenstufen der Glykolyse, die darauf schließen lassen, daß folgende enzymatische Schritte, insbesondere die oxydative Phosphorylierung zur Diphosphoglycerinsäure, dem Negelein - Ester, blockiert sind :

3-Phosphoglycerinaldehyd + DPN^+ + H_3PO_4 $\rightleftharpoons$ (PGADH) 1,3-Diphosphoglycerinsäure + DPNH + H^+

Diese Zunahme der Intermediärprodukte läßt sich nicht nur mit der Aktivitätsabnahme der PGADH erklären, sondern vereinbart sich auch mit der Beobachtung von Blum (8), der feststellte, daß die Konzentration des Diphosphopyridinnucleotids (DPN ; jetzt: NAD = Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid) während der Lagerung abnimmt. Daraus wird eine Steigerung der DPN - spaltenden Aktivität gefolgert. DPN dient bei dieser Reaktion als Wasserstoffakzeptor.

Hofmann (28) fand DPN- und TPN-spezifische Nukleosidasen im Erythrozyten, die durch Nikotinsäureamid hemmbar sind.

3.) Der Erythrozyt verliert während der Lagerung Kalium. Dieser Prozeß wird durch NaF, NaF und Na_2AsO_4 sowie Monojodessigsäure und Adenosin beschleunigt (18) und durch Herzglykoside (31,34), Digoxin (48), NSA (17) und Kalziumkomplexbildner, wie Äthylendiamintetraessigsäure, Calgon (Na-Hexametaphosphat) und Na-Oxalat (19) gehemmt. Maizels (35) schließt auf einen Kalzium haltigen Stoff der Zell-

wände, der die Durchlässigkeit steuert.

Da alle Stoffe keinen Einfluß auf den Ablauf der Glykolyse gezeigt haben, ist die Wirkung offenbar auf die Veränderung eines Membrantransportmechanismus (31) zurückzuführen. Es wird ein bisher unbekannter Kaliumträger vermutet (48).

Es muß ferner darauf hingewiesen werden, daß durch den Stabilisator selbst eine Beeinflussung des Blutes eintreten kann. So verändert ein niedriges Anfangs-pH den Ablauf des Stoffwechsels in der Weise, daß die Glykolyse verlangsamt wird (6,36). Die ATP-Abnahme ist bei Lagerungsbeginn also nicht durch eine stoffwechselmäßige Hinderung sondern durch die Erniedrigung des pH-Wertes bedingt.

So kam man auf den Gedanken, Phosphat als Puffersubstanz zu verwenden, Es wurde der CPD-Stabilisator (20) entwickelt, der gegenüber der ACD-Lösung einen um 0,5 Einheiten höheren bei 5,53 liegenden pH-Wert (s.Tabellen III und IV; S.20 und 21) aber auch eine um 0,42 Gramm pro 100 ml höhere Zitratkonzentration (s.Tabellen I und II ; S.12 und 13) hat.

Zitratsalze können in Mengen, wie sie bei Transfusion mehrerer Konserven in kurzer Zeit, beim extrakorporalen Kreislauf und bei der künstlichen Dialyse übertragen werden, toxisch wirken (25). Auch ist bei Leber-, Nieren- oder Herzkrankheiten, ebenso bei Transfusion in Hypothermie zu berücksichtigen, daß das Zitrat nicht so schnell in den normalen Stoffwechsel hineingebracht werden kann bzw. die Veränderungen nicht so schnell ausgeglichen werden können. Dieser Umstand veranlaßte Dobrý (11), einen Stabilisator mit nur geringer Zitratkonzentration zu entwickeln.

Von dieser Möglichkeit, die Zitratzugabe zu vermindern, wurde beim CPD-Stabilisator Gebrauch gemacht. Dabei war es erforderlich als Puffer Dinatriumphosphat (Na_2HPO_4) statt Mononatriumphosphat (NaH_2PO_4) zu wählen. Gleichzeitig wurde das pH der Lösung, wie es von Blum (6) empfohlen wird, erhöht. Dieser Stabilisator wurde CPD_2 benannt (s.Tabellen II und IV; S.13 und 21).

Welches die maßgebenden Faktoren für die Alterung sind,

läßt sich nicht entscheiden. Aus allen angeführten Gründen war es von Interesse zu erfahren, ob Zusätze von NSA, Cystein und Rutin einzeln bzw. in Kombination zum ACD- und CPD-Stabilisator und eine im pH-Wert veränderte CPD-Lösung die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten verbessern.

Wenn diese theoretischen Diskussionen, die auch zum Teil auf in vitro Versuchen beruhen, zutrifen, müßte die Überlebensfähigkeit der roten Blutkörperchen in vivo verbessert werden können.

Hierbei ist ein Grundproblem kurz zu erörtern :

Von vielen Autoren werden Änderungen, die an der Zelle selbst festgestellt werden bzw. das Fehlen dieser Veränderungen als Maßstab für die Wirksamkeit eines Zusatzes angesehen. So gibt es Untersuchungen von Yoshikawa (37), der die Struktur des Erythrozyten, die von der Konzentration der ATP abhängig ist, als maßgeblich ansieht und feststellt, daß nach Zusatz von Inosin und Adenosin der Erythrozyt wieder sein normales Aussehen gewinnt, sowie seinen ATP-Gehalt wieder normalisiert. Daraus wird gefolgert, daß dem Zusatz von Inosin und Adenosin ein optimales Maß zukommt.

Andere Autoren sehen in der Abnahme der Hämolyse bzw. in der günstigen Änderung der Stoffwechselverhältnisse im gelagerten Blut eine Möglichkeit, die Verbesserung eines Stabilisators zu erkennen (14,15,30). Diese Kriterien können jedoch für die genaue Feststellung der Verwendbarkeit von Blutkonserven nicht maßgebend sein, da es nicht allein darauf ankommt, daß die Zelle in einzelnen Äußerungen wieder normalisiert wird, sondern daß in toto die Überlebensfähigkeit der gesamten Zelle und ihre Funktion, auf die es ja nach der Transfusion ankommt, nämlich Sauerstoff zu transportieren und abzugeben, wiederhergestellt wird oder erhalten bleibt.

Ähnliche Beobachtungen, wie sie Weinstein (47) am Erythrozyten machte, daß die Strukturerhaltung nicht notwendigerweise Funktionstüchtigkeit bedeutet, gibt es von Untersuchungen über Leukozyten und Thrombozyten (6).

Nur die Funktionstüchtigkeit, gemessen an der Überlebensfähigkeit der Zellen, kann als Kriterium für die Blut-

konservierung angesehen werden. Hierfür stehen zwei Methoden zur Verfügung : Zum einen die Differentialagglutinationsmethode nach Ashby (3) zum anderen die ^{51}Chrom-Markierungsmethode!

Letztere wurde hier verwendet.

Bezüglich der durchgeführten Untersuchungen wurde von folgenden Vorstellungen ausgegangen :

Zum Ausgangspunkt wurden der allgemein verwendete ACD-Stabilisator und ein CPD-Stabilisator nach Gibson (20) gewählt.

Die Ergänzung durch NSA soll eine Hemmung der DPNase-Aktivität bewirken. Nach Hofmann (29) tritt diese zu 73 % bei einer Endkonzentration von 1,5 x 10^{-2}m NSA ein. Durch Zugabe von 2,5g NSA zu 500 ml Blutkonserve wird eine Endkonzentration von 4 x 10^{-2}m angestrebt (Molekulargewicht von NSA : 123,11), um eine größtmögliche Minderung der DPNase-Aktivität zu erreichen.

Orientierende Untersuchungen ergaben, daß die Zugabe einer solchen Menge von NSA keine Hämolyse hervorruft.

Der Cystein-Zusatz soll für die sehr labilen SH-Gruppen enthaltenden Fermente, PGADH und G-6-PDH, einen Schutz bieten. Durch 0,105 g Cystein tritt in der Blutkonserve eine Endkonzentration von 1,5 x 10^{-3}m ein (Molekulargewicht von Cystein : 175,64).

Eine Abdichtung bzw. Verminderung der Permeabilität und Stabilisierung der Erythrozytenmembran soll durch Rutin, gegeben als Rutinsulfat, eintreten. Für die ausreichende Dosierung von Rutin konnten in diesem Zusammenhang keine Angaben gefunden werden. Es muß der Hinweis genügen, daß Rutin in therapeutischen Dosen von 0,6 g pro die verabreicht wird und eine Überdosierung ausgeschlossen wird.

Die höhere Zitratkonzentration des CPD_1-Stabilisators gegenüber der ACD-Lösung veranlaßten, den Zitratgehalt zu senken. Ursprünglich enthält er 2,58 g Natr.citric. in 100 ml. Nach Dobrý (11) ist es jedoch möglich, den Zusatz auf 1,276 g zu verringern. Dadurch steigt vom klinischen Standpunkt die Ungefährlichkeit in bezug auf die Kreislaufirritation des Empfängers durch die Zitratsalze bei größeren Transfusionen (25)(s.a.S.9).

	ACD	ACD +NSA	ACD +Rutinsulfat	ACD +NSA +Cystein	ACD +NSA +Rutinsulfat
Acid. citric.	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Dextrose	2,34	2,34	2,34	2,34	2,34
Natr. citric.	2,16	2,16	2,16	2,16	2,16
NSA	-	2,50	-	2,50	2,50
Cystein	-	-	-	0,105	-
Rutinsulfat	-	-	0,20	-	0,20
Aqua bidest. ad	100	100	100	100	100

Angaben in Gramm

Tabelle I. Zusammensetzung der verwendeten ACD-Stabilisatoren.

	CPD_1	CPD_1 + NSA	CPD_1 +Rutinsulfat	CPD_1 + NSA + Cystein	CPD_1 +NSA +Rutinsulfat	CPD_2	CPD_2 + NSA
Acid. citric.	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
Dextrose	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Natr. citric.	2,58	2,58	2,58	2,58	2,58	1,276	1,276
NSA	–	2,50	–	2,50	2,50	–	2,50
Cystein	–	–	–	0,105	–	–	–
Rutinsulfat	–	–	0,20	–	0,20	–	–
NaH_2PO_4	0,218	0,218	0,218	0,218	0,218	–	–
Na_2HPO_4	–	–	–	–	–	1,00	1,00
Aqua bidest. ad	100	100	100	100	100	100	100

Angaben in Gramm

Tabelle II. Zusammensetzung der verwendeten CPD-Stabilisatoren.

Durch den geringeren Zitratgehalt sank der pH - Wert unter 5. Es mußte Na_2HPO_4 als Puffer verwendet werden. 100 ml des Stabilisatoransatzes wurden mit 1,0 g Na_2HPO_4 auf einen pH-Wert von 6,1 eingestellt. Diese CPD_2 benannte Lösung hat im Vergleich zu ACD einen dem physiologischen Wert weiter angenäherten pH-Wert. Aus mehreren Gründen erscheint das vorteilhaft :

1.) Dem Erythrozyten dient die 2,3 - Diphosphoglycerinsäure (2,3-DPGS) als Puffer. Ihre Konzentration nimmt mit fallendem pH - Wert des umgebenden Mediums ab (41). Die 2,3-DPGS stellt eine Vorstufe für die ATP-Bildung dar. Ihre Anwesenheit ist also als Energiereservoir anzusehen (6). Ein höherer pH-Wert bzw. die Verhinderung des Abfalls des pH-Wertes sichert den Erhalt der 2,3-DPGS und damit die Verwertung zum ATP-Aufbau.

2.) Eine Erhöhung des pH-Wertes steigert die Ausnutzung der Glukose (36).

3.) Beim Einlaufen des Blutes in den Stabilisator liegt zu Beginn eine große pH-Differenz vor (Blut ca 7,35 - ACD-Stabilisator 5,0), die zur Aufquellung der Erythrozyten führt (45), wodurch eine mechanische Belastung und somit eine Schädigung der roten Blutkörperchen gegeben ist.

Methodik

Die Stabilisatoren wurden nach den aus Tabelle I und II ersichtlichen Angaben eingewogen und sterilisiert. 20 ml wurden in eine leere sterile 100 ml Blutkonservenflasche* gegeben. Es konnten 5 Konservenflaschen durch eine Blutspende, also durch Blut e i n e s Spenders, gefüllt werden. Nach Aufbewahrung der Konserven bei 4°C wurde die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten bestimmt.

Die Versuche wurden in vivo an Probanden, von denen man annehmen mußte, daß ihre Blutmauserung nicht pathologisch

---

* Die verwendeten Flaschen enthielten bereits 5 ml physiologische Kochsalzlösung, um sie sterilisieren zu können. Es wurden deshalb die Stabilisatorsubstanzen in einem einviertel geringeren Volumen gelöst, da jeweils nur 15 ml statt 20 ml zugesetzt werden konnten.

verändert war, ausgeführt.

Zur Bestimmung der Überlebensfähigkeit der Erythrozyten diente die ^{51}Chrom-Markierungsmethode (26,49) :

Die Methode beruht auf der Tatsache, daß radioaktives Chrom eine bestimmte Affinität zu den Erythrozyten zeigt. Das Isotop wird an das Globin des Hämoglobinmoleküls gebunden. Diese Bindung stellt die Voraussetzung für die Methode dar.

^{51}Chrom wurde als sterile wäßrige Lösung von $Na_2{}^{51}CrO_4$ hoher spezifischer Aktivität - damit ist ein möglichst großer Quotient aus der Zahl der aktiven zur Zahl der inaktiven Atome in der Lösung gemeint - der Blutprobe von 50 ml zugesetzt. Nach 30 Minuten wurde der Markierungsvorgang durch Zugabe von Ascorbinsäure (1 mg pro 1 ml Blut), die das 6-wertige zu 3-wertigem Chromat reduzierte, unterbrochen. Reduziertes Chrom geht keine Bindung mit den roten Blutkörperchen ein.

Das markierte Blut wurde zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Die Suspension enthielt danach nur markierte Erythrozyten. Es entfiel bei der späteren Berechnung die Berücksichtigung des Hämatokritwertes, da ein Meßfehler durch im Plasma zurückgebliebene Isotopen oder durch aktives Hämoglobin, wie nachgewiesen wurde (9), nicht eintrat. Außerdem konnte auf die Hämatokritbestimmung verzichtet werden, da Änderungen im Gesamtblutvolumen des Probanden innerhalb der Bestimmungszeit von 24 Stunden nicht auftraten.

Vor der Transfusion des Blutes wurde ein Kreuztest mit einer bei der Blutspendung separierten Blutprobe, enthalten im " Kreuzteströhrchen ", mit dem Probandenblut erstellt. Die "halbe Kreuzprobe", wie sie von Dahr (10) beschrieben ist, nämlich die Vermischung des Empfängerserums mit den Spendererythrozyten, wurde als Kriterium für die Verträglichkeit angesehen.

Wie bei einer Injektion wurde die Blutprobe mittels Spritze übertragen. Nach 20 Minuten und nach 24 Stunden wurde aus der contralateralen Cubitalvene circa 10 ml Blut mit einer inaktiven Kanüle abgenommen und in einem mit Liquemin benetzten Reagensglas aufgefangen. Das so gewonnene Blut wurde hämolysiert und in Meßröhrchen pipettiert.

Durch die Hämolyse wurde eine gleichmäßige Verteilung des markierten Hämoglobins erreicht.

Die vom Isotop ausgesandte Gammastrahlung wurde mit einem Szintillationszähler in Form eines Bohrlochkristalls gemessen. Man erhielt zwei Werte, die bei Messung zu gleicher Zeit nicht durch den Faktor des Aktivitätsabfalls korrigiert werden mußten. ^{51}Chrom hat eine Halbwertszeit von 27,7 Tagen. In dieser Zeit fällt die Aktivität einer Probe auf die Hälfte des ursprünglichen Wertes.

Es ist bekannt, daß ^{51}Chrom aus den markierten Zellen ausgewaschen wird. Hierfür beträgt die "Halbwertszeit" 64 Tage. Dieser Fehler wurde nicht berichtigt, da er die Resultate nur unwesentlich verändert und beim Vergleich von Ergebnissen untereinander entfällt.

Der 24-Stunden-Wert in Relation zum 20-Minuten-Wert ergiot die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten in Prozent. Es wurde der 20-Minuten-Wert gleich 100% gesetzt, da ein Sofort-Wert nach der Transfusion das Ergebnis infolge mangelhafter gleichmäßiger Blutverteilung erheblich verfälschen würde. Auch stören die labilsten Erythrozyten ohne jede Lebensfähigkeit nicht mehr die Messungen, da sie von der Milz gespeichert werden.

Die Resultate sind in den Abb. 1 - 6 (S. 18 und 19) angegeben. Jeder Versuchsansatz, d.h. jedes Spenderblut ist getrennt dargestellt worden, wobei jede Bestimmung an einem anderen Probanden vorgenommen wurde.

Es wurden p.a.-Substanzen der Fa. Merck, Darmstadt, sowie NSA und als Heparinpräparat Liquemin der Fa. Deutsche Hoffmann-La Roche, Grenzach/Baden, verwendet. Für die radioaktiven Messungen stand ein Szintillationszähler der Fa. Frieseke & Hoepfner, Erlangen-Bruck, zur Verfügung. Die pH-Messungen wurden mit dem pH-Meter der Fa. Beckman, München, durchgeführt.

Ergebnisse

Die in Abb. 1 + 4 angegebene Kurve gibt die durchschnittliche Überlebensfähigkeit der Erythrozyten in % nach Lagerung in der ACD-Lösung wieder, wobei die Ordinate

die Überlebensfähigkeit in % angibt, während auf der Abszisse die Lagerungszeit in Tagen eingetragen ist. So beträgt z.B. die Überlebensfähigkeit nach 21 Tagen Lagerung ca. 70%, nach 28 Tagen Lagerung ca. 50% bzw. nach 35 Tagen Lagerung ca. 25%.

In der 1.Serie (s.Abb. 1) wurde als Vorversuch, um die Methode zu erproben, die Überlebensfähigkeit nach einem Tag Lagerung mit 92,8 - 96,2% bestimmt. Diese Ergebnisse lagen in den zu erwartenden Größenordnungen und sprachen somit für die Methode und Versuchsanordnung, so daß die Untersuchungen fortgesetzt wurden.

Eine zweite Bestimmung der Überlebensfähigkeit der gleichen Konservenansätze nach 36 Tagen Lagerung ergab Werte zwischen 28,7% und 47,8%. Die in der CPD_1-Lösung mit NSA-Zusatz gelagerten Erythrozyten zeigten mit 47,8% gegenüber den drei anderen Ansätzen mit 28,7% (ACD), 29,4% (ACD + NSA) und 38,3% (CPD_1) ein leicht verbessertes Ergebnis. In gleicher Weise war das Resultat für die CPD_1-Lösung günstiger, d.h., es waren nach gleicher Aufbewahrungszeit mehr Erythrozyten als von den nur in ACD konservierten Erythrozyten lebensfähig.

Sämtliche Ergebnisse der 2.Serie (s.Abb. 2) liegen weit unter den zu erwartenden Durchschnittswerten. Hierfür können verschiedene Ursachen diskutiert werden (s. später : Fehlerquellen).

In bezug auf die Konservierungslösung sind in der Serie 3 (s.Abb. 3) die Ergebnisse der CPD_1-Werte unabhängig von den NSA- und Rutin-Zusätzen den ACD-Werten überlegen. Das gleiche Blut eines Spenders wurde also in einer CPD_1-Lösung besser gelagert als in einer ACD-Lösung.

In den Serien 4, 5 und 6 (s.Abb. 4 - 6) sind keine wesentlichen Unterschiede der Ergebnisse untereinander im Rahmen der Fehlerbreite zu finden. Es wäre verfehlt, geringen Differenzen Bedeutung beizumessen und Vorteile eines Stabilisators für die Lagerungsdauer herauszulesen. Daher muß gesagt werden, daß das Blut in den Stabilisatoren der letzten drei Serien annähernd gleich gut gelagert wurde.

Daraus folgt, daß die Zusätze zu den Konservierungslösungen keine wesentliche Wirkung auf die Erhaltung der

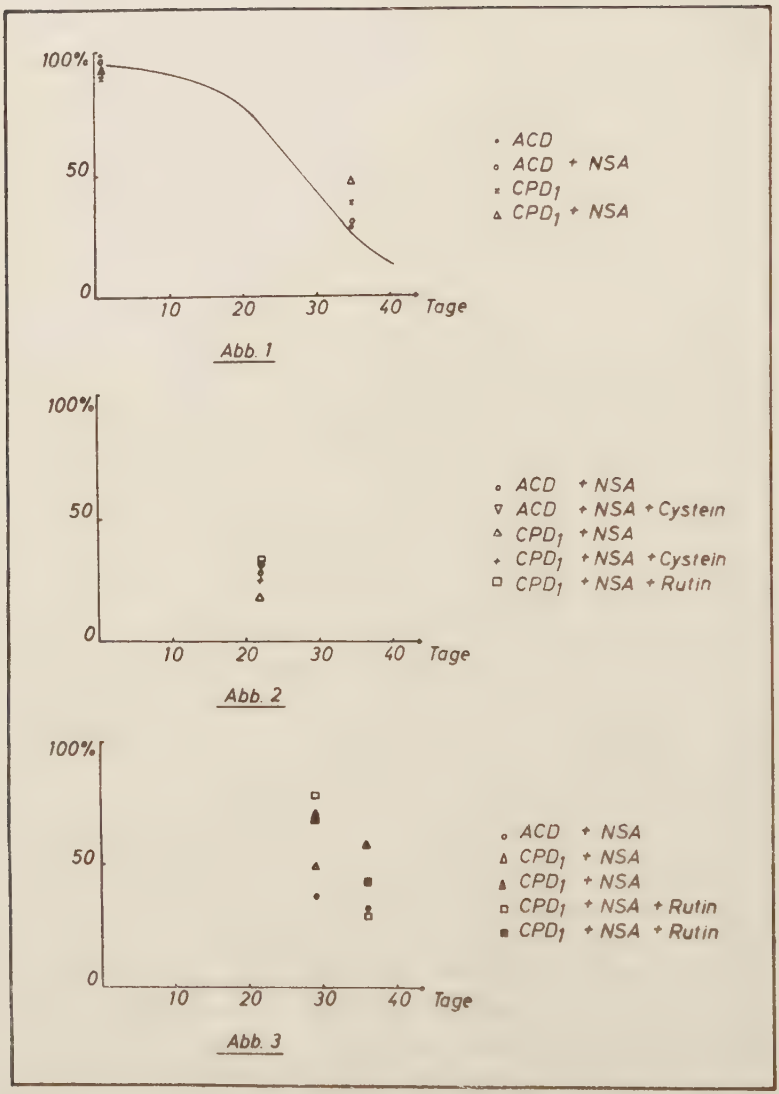

Abb. 1 - 3. Überlebensfähigkeit von transfundierten Erythrozyten nach Lagerung in den angegebenen Stabilisatoren.

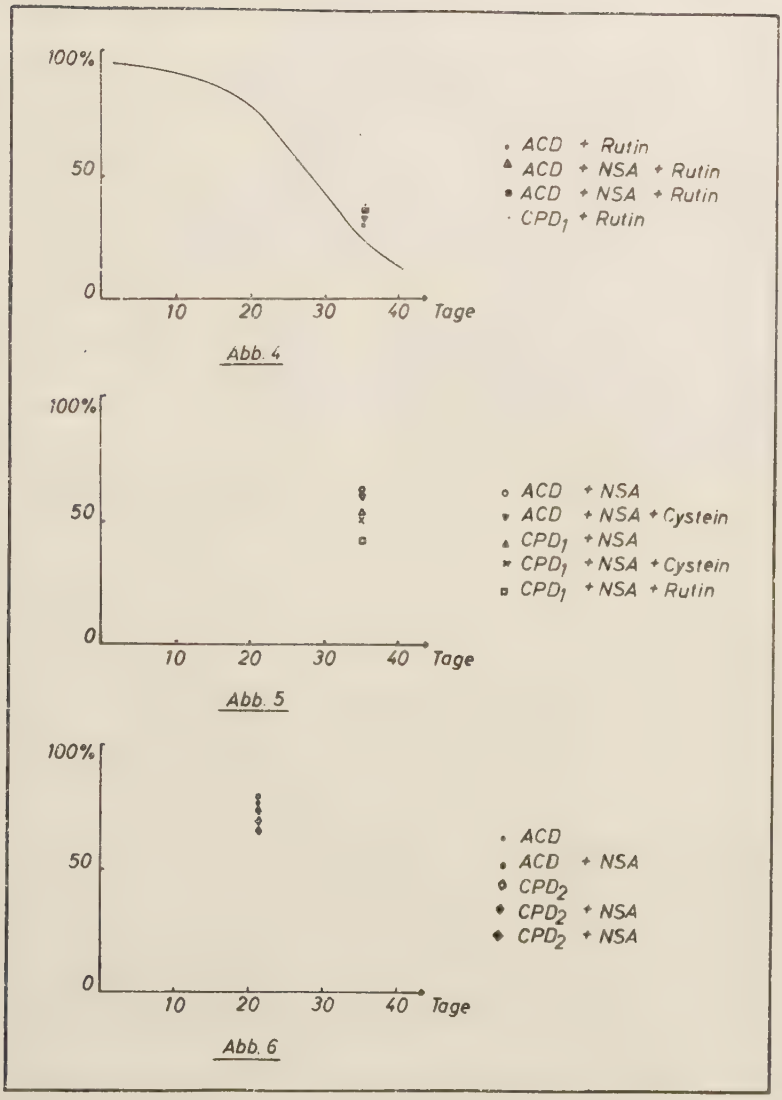

Abb. 4 - 6. Erläuterungen siehe Abb. 1 - 3.

	ACD	ACD +NSA	ACD +Rutinsulfat	ACD +NSA +Cystein	ACD +NSA +Rutinsulfat
pH - Wert des Stabilisators x)	5,10	5,20	5,10	5,03	4,90
	5,12	5,27	5,19	5,18	5,03
	4,99	5,30	5,21	5,18	5,02
	4,98	5,14	5,18	5,00	4,90
$\bar{x}$	5,04	5,22	5,17	5,09	4,96
s	± 0,22	± 0,28	± 0,05	± 0,24	± 0,15
pH - Wert der Konserve xx)	7,15	6,50	6,50	6,40	6,40
	6,82	7,00	7,05	6,75	6,97
	6,83	6,81	6,82	6,62	6,82
	7,20	7,42	6,59	7,00	7,00
	7,10	7,01	6,80	6,80	7,11
$\bar{x}$	7,02	6,95	6,75	6,72	6,86
s	± 0,18	± 0,31	± 0,25	± 0,56	± 0,27

x) 3 Teile Stabilisator + 1 Teil physiol. NaCl

xx) 3 Teile —„— + 1 Teil —„— + 16 Teile Blut

Tabelle III. pH-Werte der verschiedenen ACD-Stabilisatoren und Konserven am Beginn der Lagerungszeit unter Angabe der Durchschnittswerte $\bar{x}$ und der Streuung s.

	CPD_1	CPD_1 + NSA	CPD_1 +Rutinsulfat	CPD_1 + NSA + Cystein	CPD_1 +NSA +Rutinsulfat	CPD_2	CPD_2 + NSA
pH-Wert des Stabilisators *)	5,50	5,55	5,50	5,40	–	–	–
	5,54	5,52	5,36	5,44	5,63	6,07	6,16
	5,58	5,60	5,58	5,48	5,61	6,18	6,21
	5,49	5,51	5,42	5,34	5,48	6,10	6,19
$\bar{x}$	5,53	5,54	5,46	5,41	5,57	6,12	6,18
s	± 0,13	± 0,19	± 0,22	± 0,19	± 0,17	± 0,17	± 0,24

pH-Wert der Konserve **)	6,55	6,45	6,80	6,93	–	–	
	7,17	6,98	6,84	6,97	6,93	7,18	7,26
	6,78	6,71	6,70	6,70	6,80	6,99	7,08
	7,10	7,32	6,81	7,28	7,25	7,45	7,45
	6,94	7,10	6,98	6,99	7,30	7,15	7,31
$\bar{x}$	6,91	6,91	6,82	6,97	7,07	7,19	7,27
s	± 0,25	± 0,36	± 0,15	± 0,32	± 0,24	± 0,24	± 0,28

*) 3 Teile Stabilisator + 1 Teil physiol. NaCl

**) 3 Teile —— " —— + 1 Teil —— " —— + 16 Teile Blut

Tabelle IV. pH-Werte der verschiedenen CPD-Stabilisatoren und Konserven am Beginn der Lagerungszeit unter Angabe der Durchschnittswerte $\bar{x}$ und der Streuung s.

Erythrozyten haben. Auch zeigt es, daß sich die Zitratverminderung in dem CPD_2-Stabilisator gegenüber dem CPD_1-Stabilisator nicht nachteilig auswirkt.

Weiterhin wurden in den Stabilisatoren (zusätzlich 1/4 physiologischer Kochsalzlösung, entsprechend den Versuchsbedingungen, s.a. Fußnote S. 14) sowie in frisch gewonnenem Blut mit Konservierungslösung pH-Messungen vorgenommen. Die pH-Werte streuen in den Konservenansätzen mit den verschiedenen ACD-Lösungen erheblich. Die zur Kontrolle wiederholten Messungen der Stabilisatorlösungen stimmen dagegen annähernd überein.

Der pH-Ausgangswert der Konserve liegt für ACD bei 7,02, für CPD_1 bei 6,91 und für CPD_2 bei 7,19 (s.Tabellen III und IV). Somit hat also die CPD_2-Blutkonserve den höchsten pH-Ausgangswert.

Fehlerquellen:

1.) Jedes Spenderblut hat eine andere im Rahmen der physiologischen Breite liegende Überlebensfähigkeit, die nach 35 Tagen Aufbewahrung des Blutes etwa zwischen 38 und 52% liegt (50). Vergleiche untereinander können deshalb nur bei großer Versuchsanzahl angestellt werden. Eine statistische Wahrscheinlichkeit würde eine größere Anzahl von Ergebnissen verlangen, die anzufertigen, nicht Aufgabe dieser Arbeit sein konnte.

Die Resultate von einzelnen Blutproben e i n e s Spenders sind jedoch miteinander vergleichbar. Daher enthält jede Abbildung nur die Ergebnisse eines Spenderblutes.

2.) Eine Veränderung des Blutabbaus der Probanden beeinflußt die Lebensdauer der transfundierten Erythrozyten. Sie werden schneller als normal abgebaut. Occulte chronische Blutungen und Hämaturien der Empfänger beeinflussen durch Eliminierung der roten Blutkörperchen aus dem Kreislauf die Resultate ebenfalls im Sinne einer verminderten Überlebensfähigkeit. Im Vergleich mit gleichem in anderen Stabilisatoren gelagerten Blut zeigt sich dann ein niedrigeres Ergebnis, das nur auf den veränderten Kreislauf des Probanden zurückzuführen ist, da der Stabilisator in ande-

ren Serien die Lebensfähigkeit des Blutes gleich gut oder besser erhielt.

Das sei an einem Beispiel erläutert: In der 2.Serie ist das Ergebnis des Stabilisators CPD_1 + NSA um ca. 10% geringer als das der übrigen. Dagegen ist der Wert in der Serie 1 am 1.Tag gleich und am 35.Tag besser als der der übrigen. D.h., in der Serie 2 ist das transfundierte Blut schneller aus dem Kreislauf des Probanden eliminiert worden, als es nach den Ergebnissen der 1.Serie zu erwarten war. Es muß also die Ursache am Probanden gelegen haben, da das Blut im CPD_1 + NSA-Stabilisator, wie Serie 1 zeigt, gut gelagert wird.

3.) Für die Bestimmung der Überlebensfähigkeit wurde die Markierungsmethode mit dem radioaktiven Isotop ^{51}Chrom verwendet.

Das Isotop zerfällt, indem es Strahlung aussendet und in ein inaktives Element übergeht. Im Laufe der Zeit wächst also in der Chromatflüssigkeit stetig der nicht mehr aktive Anteil, d.h., in einer abgelagerten Substanz ist bei gleichem Volumen die Aktivität verringert. Man benötigt von ihr einen größeren Teil, will man gleiche Aktivität verwenden.

Mit der Lagerung vergrößert sich das Volumen gemessen an der Aktivität. In größeren Mengen aber schädigt es dem Blut zugesetzt die roten Blutkörperchen.

Das Problem ergibt sich bei länger gelagerter Markierungssubstanz oder bei der Markierung kleiner Volumina von Blut.

In den Versuchen lag das Chrom für je 35 ml Blutansatz in folgender Aktivitätskonzentration vor :
(Zum leichteren Vergleich sind die entsprechenden 100 µC Werte mit angegeben)

Serie 1	(1 Tag gel.)	40 µC/0,24 ml	100 µC/0,6 ml
	(35 Tage gel.)	40 µC/0,08 ml	100 µC/0,2 ml
Serie 2		50 µC/0,24 ml	100 µC/0,48 ml
Serie 3	(29 Tage gel.)	40 µC/0,35 ml	100 µC/0,875ml
	(36 Tage gel.)	50 µC/0,20 ml	100 µC/0,4 ml
Serie 4		50 µC/0,044ml	100 µC/0,088ml
Serie 5		50 µC/0,22 ml	100 µC/0,44 ml

Die geringste Konzentration war in Serie 3 (29 Tage) vorhanden. Würde dadurch die Lebensfähigkeit der Erythrozyten beeinflußt werden, müßten alle Ergebnisse dieses Ansatzes gleichmäßig negativ verändert sein. Das ist nicht der Fall.

Eine Schädigung der Serie 2 durch die Markierungsmethode kann ausgeschlossen werden, da hierbei die Konzentration des Isotops größer als in Serie 3 war. Die schlechteren Resultate der Serie 2 lassen sich deshalb nur auf mangelnde Qualität des Spenderblutes zurückführen.

Diskussion

Für den Arzt, der eine Bluttransfusion vornimmt, ist überwiegend entscheidend, daß dem Patienten ein Blutvolumen inkorporiert wird, welches den Sauerstofftransport gewährleistet und welches nicht innerhalb kurzer Zeit aus dem Kreislauf eliminiert wird. Um ein Kriterium für diese Forderungen zu finden, wurde die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten gewählt. Damit wird bestimmt, wieviel rote Blutkörperchen am Tage nach der Transfusion im Empfänger noch vorhanden sind. Gegenüber Bestimmungen von Stoffwechselprodukten in vitro und Bestimmungen der mechanischen Resistenz hat diese Methode den Vorteil, so weit wie möglich der Praxis zu entsprechen.

Die Versuchsanordnung erlaubt, an Hand der erzielten Werte auf die Qualität der Konservierungsflüssigkeit zu schließen. Allerdings lassen Werte, die unterhalb der durchschnittlichen zu erwartenden Ergebnisse liegen, keine Aussage zu, da Fehlerquellen nicht ausgeschlossen werden können. Nur gleich gute oder bessere Resultate sind verwertbar.

Die Versuche zeigen, daß die Zusätze von NSA, Cystein und Rutin in den angegebenen Konzentrationen zu den ACD- und CPD-Stabilisatoren gegenüber den unveränderten ACD- und CPD-Lösungen teilweise verbesserte Resultate ergeben. Jedoch sind diese Verbesserungen so gering, daß sie für uns keine Veranlassung geben, für die Routinemethode der Blutkonservierung empfohlen zu werden.

In wie weit die in vivo von den in vitro Ergebnissen

abweichen, wird untersucht werden müssen. Erst dann ist es möglich, Rückschlüsse auf die Wirkungsweise der einzelnen Substanzen zu ziehen. Es wird zu diskutieren sein, ob Konzentrationsänderungen der Zusätze oder weitere Substanzen notwendig sein sollten. Insbesondere ist zu fragen, welche weiteren Fermente im Verlauf der Lagerung an Aktivität abnehmen (z.B. die Hexokinase) und welche weiteren Reagenzien als Zusätze erforderlich sein könnten (z.B. anorganisches Phosphat (30), Thiaminhydrochlorid (21) oder α-Tocopherol (33)).

Bei den pH-Wert-Messungen in den Blutkonserven mit den Stabilisatoren der verschiedenen ACD-Kombinationen ergab sich eine starke Streuung. Dies spricht für die Möglichkeit, daß sich die Puffereigenschaften der ACD-Lösungen im Gegensatz zur CPD-Lösung anders verhalten, wobei u.U. an ein Erschöpfen der Pufferkapazität zu denken ist. D.h. die Kapazität des Puffers der CPD-Kombinationen ist stärker und somit ausreichender.

Aus den beschriebenen Versuchen geht ferner hervor, daß sich keine nennenswerten Differenzen zwischen den Ergebnissen der CPD-Stabilisatoren und den ACD-Lösungen ergeben haben und damit der Wert als gleich anzusehen ist. Wegen des niedrigeren Zitratgehalts, der bei der Transfusion mehrerer Blutkonserven eine nicht unwesentliche Rolle spielt (s.S. 9), ist der CPD_2-Stabilisator allen anderen vorzuziehen. Der pH-Wert von 6,12 im Stabilisator und von 7,19 in der Konserve ist dem physiologischen pH-Wert des Blutes angenähert. Damit sind theoretische Untersuchungen und Versuche in vitro berücksichtigt worden (s.S. 9).

Endgültige Aussagen müssen Serienversuchen vorbehalten bleiben. Sollten sich die Ergebnisse reproduzieren lassen, wird es empfehlenswert sein, die CPD_2-Lösung als neue Konservierungslösung einzuführen.

Im Verlauf der Versuche ist ein Spenderblut von erheblich verminderter Qualität vorgekommen. Dieser Fall wirft die Frage auf, ob eine Änderung in der Auswahl der Spender erforderlich und möglich ist. Da die Qualität des Blutes an der Überlebensfähigkeit der roten Blutkörperchen festzustellen ist, kann eine Auswahl der Spender nach dieser

Methode nicht in Betracht kommen, weil die Durchführung allein schon aus technischen Gründen nicht möglich ist. Zum anderen müßte bei jeder erneuten Blutspende die Untersuchung wiederholt werden; denn in der Zwischenzeit könnte eine auf die Qualität des Blutes einwirkende Erkrankung eingeteten sein. Hier sei nur das Problem erwähnt, ob auch durch Tumoren, insbesondere Carcinome, der Spender die Qualität des Blutes beeinflußt werden kann. Ganz abgesehen von der Frage nach der eventuellen Transplantation.

Daß es sich hierbei um noch nicht diagnostizierte Tumoren handelt, ist selbstverständlich.

Ein nicht geringer Teil des Spenderkreises kommt aus älteren Jahrgängen. Gerade aber mit zunehmendem Alter steigt die Möglichkeit der Erkrankung an malignen Tumoren.

Die heutzutage geübte Methode bei der Spenderauswahl, die sich am Hb-Wert des Blutes sowie am subjektiven Allgemeinbefinden des gesunden Spenders orientiert, erscheint ausreichend, wenn auch vereinzelt Blutspender mit minderwertigem Blut nicht von blutgesunden Spendern unterschieden und somit herausgestellt werden können.

Die Arbeit zeigt, daß mit der Bestimmung der Erythrozyten - Überlebensfähigkeit ein optimales Kriterium für die Lagerung bzw. für die Qualität der stabilisierenden Flüssigkeit gegeben ist. Die demgegenüber bisher üblichen Angaben über Hämolyse, Verträglichkeit und Änderung von Stoffwechselverhältnissen sind zwar notwendig und wünschenswert, erlauben jedoch keine zwingenden Rückschlüsse auf die Verwendbarkeit einer Blutkonserve.

Soweit eine Änderung der Stabilisatorlösung empfohlen wird, ergibt sich daraus keine Änderung in der Lagerungszeit der Konserve und damit keine Änderung in der Blutbankorganisation, deren System weitgehend durch die Lagerungsdauer bestimmt wird.

Dies steht im Gegensatz zu russischen Autoren (1,38,46), die mit Diprozin-, Aethyzin- und Aminazin-Zusätzen bzw. Zusatz von doppelsalzsaurem Chinin (COLIPK Nr. 10) und auch saurem Natrog eine längere Lagerungszeit erzielt haben vollen. Wobei zu prüfen bleibt, in wie weit die Substanzen toxisch auf den Kreislauf wirken oder eine nicht wünschenswerte therapeutische Wirkung auf den Empfinger ausüben.

Zusammenfassung

Nach Lagerung menschlicher Erythrozyten in verschiedenen Stabilisatoren in der von der Blutbank üblicherweise durchgeführten Methode treten gleiche Qualitätsänderungen gemessen an der Überlebensfähigkeit der Erythrozyten auf. Es wird deshalb empfohlen, die Konservierungslösung mit der geringsten Zitratkonzentration und einem dem physiologischen pH-Wert angenäherten Wert zu verwenden (CPD_2).

Literatur

1. Abdullaev, G.M.: Die klinische Anwendung der Transfusion von Blut, das mit der Konservierungslösung des COLIPK Nr. 10 aufbereitet wurde. Kliničeskaja medicina 11: 45 - 48 (1955).
2. Anders, G.: Untersuchungen zur Beeinflussung der osmotischen Resistenz der Erythrozyten und der Urethanhämolyse durch Rutin. Z.ges.inn.Med.11: 1081 - 1085 (1956).
3. Ashby, W.: The Span of Life of the Red Blood Cell. Blood 3: 486 - 500 (1948).
4. Blum, K.-U.: Persönliche Mitteilung
5. Blum, K.-U.: Frischblut oder Konservenblut? Med.Klin. 57: 267 - 270 (1962).
6. Blum, K.-U.: Stoffwechselveränderungen bei Lagerung von Blut. Bibl.haemat.,vol.12,pp. 20 - 57 (Karger, Basel/New York 1961).
7. Blum, K.-U. und Glogner, P.: Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel menschlicher Erythrozyten in Abhängigkeit von Temperatur, Gasphase und Glucose. Z.ges.exp.Med.136: 52 - 58 (1962).
8. Blum, K.-U. und Trepte, G.: DPN-spaltende Aktivität in konserviertem Blut nach Kältelagerung. Klin.Wschr. 39: 268 (1961).
9. Combrisson-Le Bolloc'h, A.; Cadet, E. et André, R.: Utilisation du chrome 51 pour l'étude de la durée de vie et de la libération médullaire des hématies. C.R.hebd.Séances Acad.Sci.242: 2663 - 2665 (1956).
10. Dahr, P. und Regenbogen, E.: Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion. Georg Thieme, Stuttgart (1952).
11. Dobrý, E. und Fiala, J.: Über Blutkonservierung mittels niedriger Citratkonzentration. Z.ges.inn.Med. 8: 401 - 404 (1959).
12. Doktorandenkollektiv d.Physiol.Chem.Inst.d.Hum.Uni. Bln.: Das Verhalten von Enzymen und Substraten bei der Konservierung von Blut in verschiedenen Medien. Folia haemat.Lpz.78: 352 - 355 (1961).
13. Donohue, D.M.; Gabrio, B.W.; Huennekens, F.M. and Finch, C.A.: The Metabolic Pathways of Purine Nucleosides and the Use of Inosine in Red Cell Pre-

servation. Proc.VI.Congr.Int.Soc.Blood Transf.1956, S.Karger,Basel: 290 - 297 (1958).

14. Ferber, E. und Fischer, H.: Untersuchungen zur verbesserten Zellkonservierung. III.Mitteilung. Die Wirkung von Purinnucleosiden und Steroiden auf die mechanische Resistenz frischer und gelagerter Erythrozyten. Klin.Wschr.41: 427 - 433 (1963).
15. Fischer, H. (Frankfurt/Main): Persönliche Mitteilung
16. Gabrio, B.W.; Finch, C.A. and Huennekens, F.M.: Erythrocyte preservation: A topic in molecular biochemistry. Bloo 11: 103 - 113 (1956).
17. Gardos, G.: Über die Kaliumpermeabilität der menschlichen roten Blutkörperchen. Acta physiol.Acad.Sci. hung.Suppl.11: 31 - 32 (1957).
18. Gardos, G.: Die Wirkung von Äthylendiamintetraacetat auf die Permeabilität menschlicher Erythrozyten. Acta physiol.Acad.Sci.hung.14: 1 - 5 (1958).
19. Gardos, G.: Die Rolle von Calcium für die Kaliumpermeabilität von menschlichen Erythrozyten. Acta physiol.Acad.Sci.hung.15: 121 - 125 (1959).
20. Gibson, J.G.2nd; Rees, S.B.; McManus, T.J. and Scheitlin, W.A.: Citrate-phosphate-dextrose solution for preservation of human blood. Amer.J.clin.Path.28: 569 - 578 (1957).
21. Greiling, H.; Winkelmann, W. und Schütte, E.: Einfluß von Thiamin auf die Phosphataufnahme und den Phosphatstoffwechsel des Erythrozyten. Acta biol.med. german.1: 389 - 395 (1958).
22. Hasse, W.: Über die Anwendung von Blutkonserven jenseits der Vierwochengrenze. Bibl.haemat.2: 122 - 126 S.Karger, Basel/New York 1955.
23. Heim, W.: Indikationen zur Bluttransfusion. Vortrag vor der Berliner Medizinischen Gesellschaft. 31.1.1962.
24. Heim, W.: Bluttransfusionstechnik und -problematik. Monatskurse für ärztl. Fortbildung 4: 1 - 4 (1960).
25. Heim, W.: Aktuelle Fragen der Blutkonservierung. Langenbecks Arch.klin.Chir.,Bd.289 (Kongreßbericht) (1958).
26. Heim, W.; Schumacher, W. und Frost, D.: Radioaktive

Isotope in der Chirurgie. W.de Gruyter & Co. Bln 1961.

27. Hock, A. und Huber, G.: Einfluß von Inosin auf den Einbau von ^{32}P-Orthophosphat in die Phosphorverbindungen von Erythrozyten bei der Lagerung. Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem.308: 116 - 121 (1957).
28. Hofmann, E.C.G. und Rapoport, S.: DPN- und TPN-spezifische Nucleosidasen in Erythrozyten. Biochim.biophys.Acta 18: 296 (1955).
29. Hofmann, E.C.G. und Rapoport, S.: DPN- und TPN-spezifische Nucleosidasen in Erythrozyten. II.Eigenschaften und Hemmbarkeit der gereinigten Enzyme. Biochem.Z.329: 437 - 448 (1957).
30. Kleine, N. und Schmitt, H.: Neue Gesichtspunkte und Erkenntnisse für die Lagerung von Blutkonserven. Blut 8: 145 - 157 (1962).
31. Kunz, H.A. und Sulser, F.: Über die Hemmung des aktiven Kationentransportes durch Herzglykoside. Experienta 13: 365 - 367 (1957).
32. Löhr, G.W. und Waller, H.D.: Zellstoffwechsel und Zellalterung. Klin.Wschr.37: 833 - 843 (1959).
33. Luczak, S. und Wolf, F.: Die Herabsetzung der Hämolyse und die Verlängerung der Überlebenszeit Cr^{51}-markierter Erythrozyten beim Empfänger nach Vorbehandlung der Blutkonserven mit Vitamin E. Dtsch.med. Wschr.14: 707 - 711 (1963).
34. Machova, J. und Selecky, F.V.: Hemmwirkung des aus Asclepias syriaca isolierten Glykosids auf den Kaliumtransport durch die Erythrozytenmembran. Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Pathol.Pharmakol.236: 245 - 246 (1959).
35. Maizels, M.: Calcium-Ionen und die Permeabilität menschlicher roter Blutkörperchen. Nature 184: 366 (1959).
36. Murphy, J.R.: Erythrocyte metabolism. II.Glucose metabolism and pathways. J.Lab.clin.Med.55: 286 - 302 (1960).
37. Nakao, M.; Nakao, T.; Tatibana, M.; Yoshikawa, H. and Abe, T.: Effect of inosine and adenine triphosphate regeneration and shape transformation in long-

stored erythrocytes. Biochim.biophys.Acta 32: 564 - 572 (1959).

38. Oldurova, S.V.: Experimentelle und klinische Untersuchung von Blut, das mit einem neuen Blutstabilisator - saurem Natrog - aufgearbeitet wurde. Azerbajdžan.med.Žurnal 3: 70 - 74 (1958).
39. Overgaard-Hansen, K.: Erneuerung von Adenosintriphosphat in menschlichen Erythrocyten durch Purinnucleoside. Acta pharmacol.toxocol.(København) 14. 67 - 76 (1957/58).
40. Pettenkofer, H.J.: Blutgruppen-Serologie. Beiheft zu "Laboratoriums-Blätter" (Behringwerke AG)V(1961).
41. Rapoport, S. and Guest, G.M.: The role of diphosphoglyceric acid in the electrolyte equilibrium of blood cells. J.biol.Chem.131: 675 - 689 (1939).
42. Rubinstein, D.; Kashket, S. and Denstedt, O.F.: Studies on the preservation of blood. VI.The influence of adenosine and inosine on the metabolism of the erythrocyte. Canad.J.Biochem.36: 1269 - 1276 (1958).
43. Schmitt, H.: Probleme der Blutkonservierung. Der Einfluß von Nukleinkörpern auf die Lagerungsfähigkeit des Blutes. Proc.VII.Congr.Int.Soc.Blood Transf. 1958,S.Karger,Basel: 54 (1959).
44. Severin, S. und Svenzizkaja, M.: Der Stoffwechsel der roten Blutkörperchen während der Blutkonservierung. Folia haemat.Lpz.76: 355 - 361 (1959).
45. Strumia, M.M.: The immediate collection damage to red cells. Proc.VI.Congr.Int.Soc.Blood Transf.1956, S.Karger,Basel: 303 (1958).
46. Vinograd-Finkel', F.R.: Fortschritte auf dem Gebiet der Blutkonservierung. Zum 40jährigen Bestehen des sovjetischen Gesundheitsschutzes. Probl.gematol.i pereliv.krovi 4: 12 - 18 (1957).
47. Weinstein, I.M.; Mathies, J.C.; Katzman, R.; Forney, F.P.: Osmotische Resistenz und das Überleben nach Infusion von menschlichen Erythrocyten, welche in Gegenwart von α-Tocopheryldinatriumphosphat gelagert waren. Pro.Soc.exp.Biol.Med.99: 170 - 172 (1958).
48. Whittam, R.: Kaliumwanderung und Phosphatstoffwechsel

in roten Blutkörperchen. J.Physiology 137: 13 - 14 (1957).

49. Vetter, H. und Veall, N.: Radioisotopen-Technik in der klinischen Forschung und Diagnostik. Urban + Schwarzenberg (1960) München-Berlin.

50. ./. Measurement of Red Cell Mass with Radiochromium. Diagnostic Applications of Radioactive Isotopes, published 1960 by Nuclear-Chicago Corporation.

Meinem verehrten Lehrer Prof.Dr.med. W. Heim möchte ich für die Überlassung des Themas meinen Dank sagen.

Herrn Priv.-Doz.Dr.med. K.-U. Blum danke ich für viele wertvolle Ratschläge.

L e b e n s l a u f

Am 25. Juli 1938 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. med. Wilhelm Mehlhorn und seiner Ehefrau Ursula geb. Winkler in Berlin geboren.

Ich besuchte im Bezirk Berlin-Wedding, in dem mein Vater eine Praxis und die Wohnung hatte, die Grund- und Oberschule. 1957 bestand ich auf der Diesterweg-Oberschule das Abitur. Anschließend studierte ich an der Freien Universität Berlin Medizin und legte im Herbst 1959 das Physikum und im März 1963 das Staatsexamen mit dem Urteil "gut" ab.

Mein Vater wurde 1944 in Rußland vermißt. Meine Mutter arbeitet seit 1950 bei der Kassenärztlichen Vereinigung als Angestellte und ermöglichte mir die Ausbildung.

Jetzt bin ich im 2. Jahr als Medizinalassistent tätig.